

# OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DOS TOCOFERÓIS A PARTIR DO DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA

MARIA CELIA DE OLIVEIRA HAULY<sup>1</sup>  
JOSIANI ROMANI RABASSI<sup>2</sup>  
SUELY M. OBARA DOI<sup>1</sup>  
GENI VARÉA PEREIRA<sup>1</sup>

HAULY, M. C. O.; RABASSI, J. R.; DOI, S. M. O.; PEREIRA, G. V. Otimização da extração dos tocoferóis a partir do destilado da desodorização do óleo de soja. *Semina: Ci. Biol. Saúde*, Londrina, v. 20/21, n. 2, p. 25-31, jun. 1999/2000.

**RESUMO:** As indústrias de refinação de óleos vegetais geram entre 0,10 e 0,15 % de um subproduto denominado de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), a partir do óleo bruto total submetido à desodorização. O destilado é um subproduto rico em ácidos graxos livres e lipídeos insaponificáveis, entre eles esteróis e tocoferóis. Os tocoferóis apresentam grande atividade de vitamina E e também antioxidante. Em função destas propriedades podem ser utilizadas na formulação de produtos farmacêuticos e cosméticos; como suplemento de ração animal, especialmente par aves, e como aditivo na indústria de alimentos. O presente estudo tem por objetivo otimizar a extração dos tocoferóis presentes no destilado da desodorização do óleo de soja, através da metodologia de superfície de resposta empregando-se experimento fatorial incompleto 3<sup>3</sup>. O teor de tocoferol e o rendimento da fração insaponificável foram determinados através de espectrofotometria e gravimetria, respectivamente. A metodologia de superfície de resposta definiu a concentração de KOH como a variável mais importante devendo ser maior que 50 % e menor que 60 %; os volumes de éter mais adequados para obtenção de tocoferóis e extração da fração insaponificável foram 200 mL e 400 mL respectivamente; o tempo de saponificação deve ser fixado em 20 minutos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Tocoferóis; extração de tocoferóis; destilado da desodorização do óleo de soja; metodologia de superfície de resposta.

## INTRODUÇÃO

Para obtenção de óleos vegetais comestíveis, com características organolépticas adequadas para envasamento, consumo direto, ou como ingredientes na produção de alimentos, o óleo bruto é submetido a vários procedimentos, entre eles a desodorização. Esse processo consiste no aquecimento do óleo bruto a cerca de 260°C com retirada, por destilação, de compostos voláteis responsáveis pelos odores desagradáveis, como aldeídos, cetonas, ácidos graxos oxidados, hidrocarbonetos, ácidos graxos de cadeia média e curta, peróxidos e glicerídeos parciais, removendo também matéria insaponificável menos volátil como, esteróis e tocoferóis (Gosh & Bhattacharyya, 1996). Devido à volatilidade vários compostos são perdidos durante o processo de desodorização do óleo bruto, formando quantidades significativas de um produto denominado de destilado da desodorização do óleo de vegetais (DDO). Esse subproduto corresponde à 0,1 a 0,4

% do peso original do óleo, contendo entre 0,8 a 10 % de tocoferóis (Almeida *et al.*, 1994).

As indústrias químicas, farmacêuticas, cosméticas e alimentícias têm se interessado pelo DDOS devido à riqueza de seus componentes (Nogala-Katucka *et al.*, 1993). Entre estes, os tocoferóis são componentes interessantes devido à sua atividade de Vitamina E e na sua possível aplicação como antioxidante (Lee *et al.*, 1991; Snyder & Know, 1984).

Considerando o potencial brasileiro na produção agrícola de soja, em média 31 milhões de toneladas em grãos (Companhia Nacional de Abastecimento, 1998), na industrialização de sementes vegetais oleaginosas, e a necessidade do desenvolvimento de tecnologia nacional para o fornecimento interno de tocoferóis com aplicação em diferentes setores industriais, o presente trabalho tem como objetivo otimizar, através da metodologia de superfície de resposta, as condições de saponificação e extração dos tocoferóis, viabilizando o aproveitamento do DDO

<sup>1</sup> Docentes do Departamento de Bioquímica da Universidade Estadual de Londrina. E-mail: biq@uel.br Cx. Postal 6001, CEP 86051-970 - Londrina - PR

<sup>2</sup> Aluna do curso de Especialização em Bioquímica Aplicada - Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Londrina.

gerado durante o processo de desodorização empregado pelas indústrias de refinação de óleos vegetais.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Matéria prima:** Utilizou-se destilado de derodurização de óleo de soja (DDOS) gerado pelo processo de desodorização do óleo de soja. As amostras foram coletadas na refinaria de óleo da COCAMAR – Maringá – PR.

**Saponificação:** Os lipídios presentes no DDOS foram submetidos à reação de saponificação conforme Christie *et al.* (1973) modificado, utilizando-se propilgalato em substituição ao ácido ascórbico (Diziekak, 1986).

Para otimizar as condições de reação de saponificação utilizou-se solução aquosa de KOH em diferentes concentrações (40; 50 ou 60 %) e tempo de reação diferentes (20; 35 e 50 minutos).

Ao término da reação foram adicionados 6,5; 8,5 ou 10 mL de solução aquosa de HCl na proporção 1:1 (v/v), conforme as respectivas concentrações de KOH (40; 50 ou 60 %).

A solução obtida na reação de saponificação foi transferida para um funil de separação (capacidade de 1000 mL) tendo-se o cuidado de retirar todo o material do balão, utilizando-se uma

quantidade mínima de éter de petróleo. O restante do éter foi adicionado em 3 etapas sucessivas seguidas de agitação para separar a fração insaponificável. A fração inferior contendo o sabão foi descartada, e a insaponificável foi lavada com água destilada em quantidade suficiente para neutralizar a base ou seja, até reação negativa com fenolftaleína. No caso de haver formação de uma fase intermediária (leitosa) entre a fração insaponificável (superior) e a água, esta deve ser coletada e analisada quanto à presença de tocoferóis (AOAC, 1995).

O éter foi completamente eliminado em evaporador rotatório, utilizando-se balão de destilação previamente tarado, a fim de determinar gravimetricamente a massa insaponificável.

A análise colorimétrica foi realizada em 534 nm (AOAC, 1995).

**Delineamento estatístico dos experimentos:** foi utilizado um delineamento fatorial incompleto  $3^3$ , com 3 variáveis independentes e 3 níveis equidistantes de variação, envolvendo 15 unidades experimentais com 3 repetições no ponto central (Cordenunsi *et al.*, 1985).

As variáveis independentes e os respectivos níveis de variação utilizados na reação de saponificação e extração da fração insaponificável estão indicadas na Tabela 1.

As respostas observadas foram teor de tocoferol ( $Y_1$ ) e rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ).

**Tabela 1** – Variáveis independentes e níveis de variação do delineamento estatístico para o desenvolvimento experimental da reação de saponificação e extração da fração insaponificável.

Variáveis independentes	Níveis de variação		
	-1	0	+1
X1 – Volume de éter para extração (mL)	200	300	400
X2 – Concentração de KOH para saponificação (%)	40	50	60
X3 – tempo da reação de saponificação (min.)	20	35	50

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de tocoferol ( $Y_1$ ) e o rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ) obtido nos diferentes experimentos estão apresentados na Tabela 2.

O experimento nº 5 apresentou maior teor de tocoferol (3,0 g/100g de lipídio insaponificável). Neste experimento foram utilizados KOH 50 %; tempo de saponificação de 20 min. e 400 mL de éter para extração da fração insaponificável.

Motta & Araújo (1991) encontraram 10,7 % e 16,0 % de tocoferol em amostras de diferentes DDOS o que demonstra a variação do teor de tocoferol conforme a natureza e procedência do subproduto.

Pode-se observar nos experimentos (nº 1; 2; 9 e 11) onde utilizou-se KOH 40 % na reação de saponificação, que não foi extraída a fração insaponificável e conseqüentemente, não foi detectado tocoferol, independentemente do tempo de reação e do volume de éter utilizados na extração da fração insaponificável, mostrando a marcada influência da concentração adequada de KOH para obtenção de tocoferóis.

Com relação ao rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ), a Tabela 2 mostra que o experimento nº 6 apresentou maior rendimento (28,7 g/100g de DDOS). No caso, as condições utilizadas forma 200 mL de éter; KOH 50 % e tempo de

**Tabela 2** – Teor de tocoferol ( $Y_1$ ) e rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ).

Nº dos experimentos	$X_1$ (mL)	$X_2$ (%)	$X_3$ (min.)	$Y_1^*$	$Y_2^{**}$
1	200	40	35	0,00	0,00
2	400	40	35	0,00	0,00
3	200	60	35	2,7735	11,8627
4	400	60	35	1,4429	22,0389
5	200	50	20	3,0015	13,3792
6	400	50	20	1,1512	28,6986
7	200	50	50	1,4623	15,1977
8	400	50	50	1,4650	25,6783
9	300	40	20	0,00	0,00
10	300	60	20	1,2625	20,5779
11	300	40	50	0,00	0,00
12	300	60	50	1,6680	16,1369
13	300	50	35	1,9126	20,5352
14	300	50	35	1,3680	18,2211
15	300	50	35	2,1632	21,0029

\* teor de tocoferol em g/100 g de lipídeo insaponificável.

\*\* rendimento da fração insaponificável em g/100 g de DDOS

saponificação de 20 minutos. Pode-se dizer que KOH 50 %, de modo semelhante ao teor de tocoferol ( $Y_1$ ), exerceu grande influência na extração insaponificável ( $Y_2$ ).

Comparando-se os experimentos nº 5 e nº 6 os quais apresentaram maior teor de tocoferol e maior rendimento da fração insaponificável respectivamente, podemos observar que em ambos, a concentração de KOH foi de 50 % e o tempo de saponificação de 20 minutos.

A análise de variância para o teor de tocoferol ( $Y_1$ ) indicada na Tabela 3, mostra que 58,59 % da variação é explicada pelo efeito linear das variáveis independentes, enquanto 24,36 % é explicada pelo efeito quadrático. Entretanto, somente 10,25 % é explicada pelo efeito de interação entre as variáveis concentração de KOH, volume de éter e tempo de saponificação.

O volume do coeficiente de determinação total  $R^2$  igual a 0,9320, significa que 93,20 % da variação em torno da média é explicada pela análise de regressão.

Portanto, pode-se dizer que o modelo estatístico se ajustou aos dados experimentais.

Através da análise de variância apresentada na Tabela 3 foi possível analisar os níveis de significância. Observa-se que os efeitos linear, quadrático e regressão total foram significativos ao nível de 5 % de probabilidade.

A Tabela 4 mostra a significância das variáveis independentes quanto aos efeitos linear, quadrático e de interação das mesmas sobre o teor de tocoferol ( $Y_1$ ). Pode-se observar que somente os efeitos lineares de  $X_1$  (0,0455) e  $X_2$  (0,0019) e o efeito quadrático de  $X_2$  (0,0095) foram significativos ao nível 5 % de probabilidade.

É importante ressaltar que a variável  $X_3$ , ou seja, tempo de saponificação, não foi significativa (ao nível de 5 % de probabilidade) mostrando que esta variável não influenciou na obtenção de tocoferol nas condições testadas. Portanto, recomenda-se a utilização do menor tempo de saponificação (20 minutos) para viabilização industrial e econômica.

**Tabela 3** – Análise de variância para o teor de tocoferol ( $Y_1$ ).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Probabilidade (Teste F)
Linear	3	7,106	0,5859	0,0068*
Quadrático	3	3,2057	0,2436	0,0417*
Interação	3	1,3491	0,1025	0,1729
Regressão total	9	12,2654	0,9320	0,0189*
Erro experimental	2	0,3261	0,1630	-----
Coeficiente de determinação ( $R^2$ ).....			0,9320	
Coeficiente de variação (C.V.).....			32,2889	

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ )

Foi verificado que o efeito de interação das variáveis independentes não exerceram influência significativa na obtenção de tocoferol.

A Figura 1 mostra o mapa de contorno obtido para otimizar as condições referentes à concentração de KOH e volume de éter, para obtenção de maior teor de tocoferol, mantendo-se fixo o tempo de reação de saponificação em 20 minutos. Isto porque conforme demonstrado anteriormente este parâmetro não interfere significativamente na resposta avaliada. Os melhores valores de tocoferóis compreendidos na faixa de 3,0 a 3,75 g/100 g de lipídios insaponificáveis representados no gráfico pelo símbolo? foram

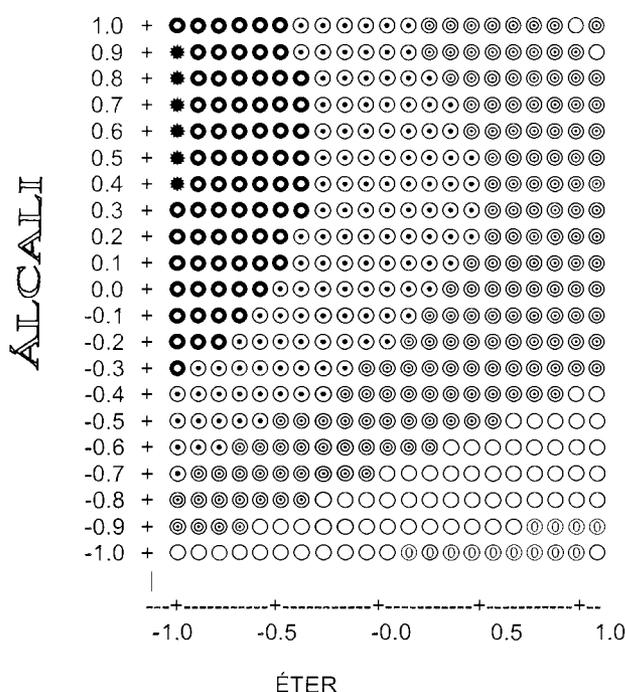
obtidos utilizando-se KOH numa concentração maior que 50 % e menor que 60 %. Os valores codificados são 0,4 a 0,9, ou seja, 54 % a 59 % para o álcali e -1,0 para o éter, ou seja, 200 mL, podem ser vistos na Figura 1. Considerando-se que a região ótima indicada na Figura 1 não define exatamente qual a concentração de KOH deve ser utilizada para obtenção de maior teor de tocoferol, sugere-se um estudo de otimização utilizando-se 200 mL de éter como ponto central da futura investigação.

Considerando que através da Tabela 3, foi verificado que a concentração de KOH ( $X_2$ ), foi a variável independente de maior significância,

**Tabela 4** – Significância das variáveis independentes na obtenção de tocoferol ( $Y_1$ ).

Efeito das Variáveis Independentes	Probabilidade
Linear	
$X_1$ (volume de éter, mL)	0,0455*
$X_2$ (concentração de KOH, %)	0,0019*
$X_3$ (tempo de saponificação, min.)	0,5286
Quadrático	
$X_1.X_1$	0,5575
$X_2.X_2$	0,0095*
$X_3.X_3$	0,4470
Interação	
$X_2.X_1$	0,1769
$X_3.X_1$	0,0793
$X_3.X_2$	0,6486

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ )



**Figura 1** – Mapa de contorno obtido referente a otimização da concentração de KOH (%) e volume de éter (mL) para obtenção de maior teor de tocoferol.

sugere-se que nos próximos experimentos a serem realizados, este parâmetro seja a variável ( $x_1$ ) e conseqüentemente, o volume de éter seja ( $x_2$ ). O tempo de saponificação poderá ser fixado em 20 minutos.

O valor máximo encontrado para o teor de tocoferol (3,0 g %) foi relativamente baixo, entretanto, é importante destacar que a amostra de DDOS utilizada nos experimentos foi obtida de única refinaria e como demonstrado por Almeida et al. (1994) existe grande variação na composição química das amostras conforme a procedência. O autor analisou através de CLAE, o teor de tocoferol em 3 diferentes amostras de DDOS e os valores obtidos foram 8,60 g/100g de DDOS; 9,30 g/100 g DDOS e 3,70 g/100 g de DDOS. Os resultados mostram a grande variação na composição química de amostras diferentes.

Através de cromatografia gasosa foi encontrado 4,8 % de tocoferol em destilado da desodorização do óleo de girassol (Gosh & Bhattacharyya, 1996). Este resultado, relativamente baixo, confirma que a fonte de tocoferol explica, em grande parte, a variação do teor de tocoferol.

A análise de variância para o rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ) encontra-se na Tabela 5. Pode-se verificar que 57,84 % da variação é explicada pelo efeito linear das variáveis independentes; 36,74 % da variação é explicada pelo efeito quadrático e somente 2,69 % refere-se ao efeito de interação entre as variáveis independentes  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  que são respectivamente, volume de éter, concentração de KOH e tempo de saponificação.

Relacionado aos níveis de significância, podemos verificar através da Tabela 6 que, os efeitos linear, quadrático e regressão total foram significativos ao nível de 5 % de probabilidade. Entretanto o efeito de interação não foi significativo.

Na Tabela 6 verifica-se que somente os efeitos lineares de  $X_1$  (0,0055) e  $X_2$  (0,0003) foram

significativos para o rendimento da fração insaponificável. Observa-se pelo valor apresentando quanto à probabilidade que a variável  $X_2$  (concentração de KOH) é mais importante que a variável  $X_1$  (volume de éter). Somente o efeito quadrático de  $X_2$  (0,0005) foi significativo reforçando a influência desta variável para obtenção de maior rendimento da fração insaponificável. Por outro lado, a variável independente  $X_3$  (tempo de saponificação) não foi significativa, ao nível de 5 % de probabilidade, quanto aos efeitos linear e quadrático, mostrando que esta variável não influencia no rendimento da fração insaponificável. Portanto, sugere-se a utilização do menor tempo, ou seja, 20 minutos que é mais economicamente viável. Pode-se observar neste quadro que de modo semelhante ao processo de obtenção de tocoferol ( $Y_1$ ), o efeito de interação entre as variáveis independentes não influenciou significativamente no rendimento da fração insaponificável.

A Figura 2 mostra o mapa de contorno obtido para otimizar as condições experimentais referentes à concentração de KOH e volume de éter para obtenção de maior rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ). O tempo de saponificação foi fixado em 20 minutos, pois como demonstrado anteriormente, esta variável não influencia significativamente no processo. Os maiores valores de  $Y_2$  (30 a 37 g/100 g de DDOS) representados na Figura 2 pelo símbolo ®, foram obtidos utilizando-se os valores codificados de 0,4 a 0,7, correspondente a 54% a 57% de álcali e 1,0 para o éter, equivalente a 400 mL.

Como a concentração exata de KOH não está definida na região ótima da Figura 2, recomenda-se fazer um novo estudo de otimização das condições experimentais para obtenção de um maior rendimento da fração insaponificável, utilizando-se KOH na faixa de 50 a 58% tendo como ponto central 54%.

**Tabela 5** – Análise de variância para o rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ).

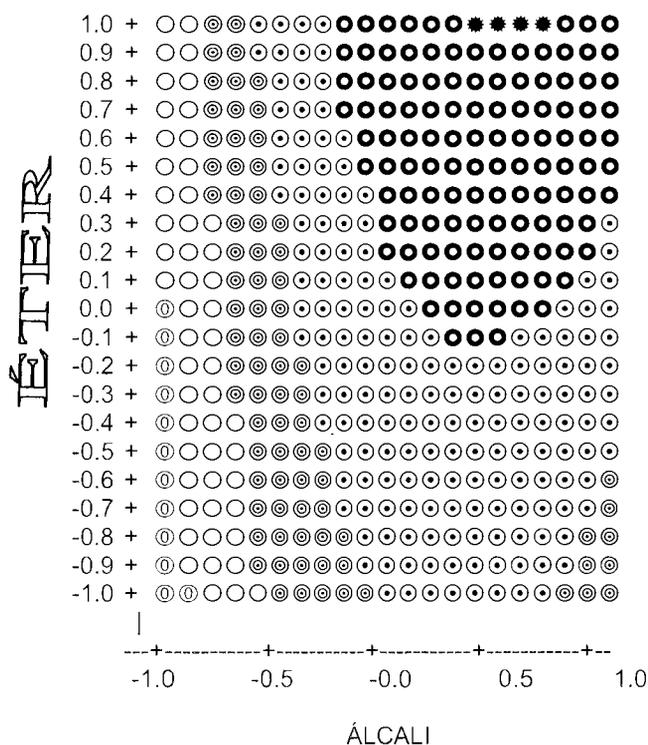
Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Probabilidade (Teste F)
Linear	3	788,5784	0,5784	0,0009*
Quadrático	3	500,8194	0,3674	0,0025*
Interação	3	36,6420	0,0269	0,2932
Regressão total	9	1326,0362	0,9727	0,0021*
Erro experimental	2	4,4285	2,2142	-----
Coeficiente de determinação ( $R^2$ ).....			0,9727	
Coeficiente de variação (C.V.).....			19,2020	

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ )

**Tabela 6** – Significância das variáveis independentes par o rendimento da fração insaponificável ( $Y_2$ ).

Efeito das Variáveis Independentes	Probabilidade
Linear	
$X_1$ (volume de éter, mL)	0,0055*
$X_2$ (concentração de KOH, %)	0,0003*
$X_3$ (tempo de saponificação, min.)	0,4979
Quadrático	
$X_1.X_1$	0,9704
$X_2.X_2$	0,0005*
$X_3.X_3$	0,6166
Interação	
$X_2.X_1$	0,1216
$X_3.X_1$	0,4160
$X_3.X_2$	0,4531

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ )



**Figura 2** – Mapa de contorno referente à otimização da concentração de KOH e volume de éter para obtenção de maior rendimento da fração insaponificável.

### CONCLUSÕES

- A Metodologia de superfície de resposta mostrou que a concentração de KOH é a variável independente mais importante para obtenção de tocoferol e fração insaponificável. Entretanto, o tempo de saponificação não influenciou significativamente nas condições testadas, podendo ser fixado em 20 minutos.
- A otimização para obtenção de tocoferol, a partir do destilado da desodorização do óleo de soja,

mostrou que a concentração de KOH maior que 50 % e menor que 60 %; 200 mL de éter e tempo de saponificação de 20 minutos foram os mais adequados.

- A otimização para obtenção da fração insaponificável, a partir do destilado da desodorização do óleo de soja, mostrou que a concentração de KOH maior que 50 % e menos que 60 %; 400 mL de éter e tempo de saponificação de 20 minutos foram os mais adequados.

**ABSTRACT:** A refinery subproduct named of soybean Oil Deodorizer distillate (SODD) is rich in tocopherols. In order to study the best conditions to extract the tocopherols an incomplete factorial planning was developed. Three variables were studied: volume of ether (200 to 400 mL), KOH concentration (40 to 60 %) and saponification time (20 to 50 minutes). Tocopherols were determined by spectrofotometry at 534 nm. The best quantity of tocopherols was 3 g/100 g from unsaponifiable matter and 28,3 g/100g of SODD for the rate of unsaponifiable matter. The KOH concentration was the most important variable which must be higher than 50 % and less than 60 %. The best ether volumes were 200 mL and 400 mL in order to get highest quantity of tocopherols and unsaponifiable matter respectively. The saponification time can be fixed in 20 minutes.

**KEY WORDS:** Tocopherols; tocopherols extraction; soybean oil distillate; response surface methodology.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M.E.M.; GUSMAN, E.C.; CARVALHO, P.R.N.; RUSIG, O. Avaliação de destilado da desodorização do óleo de soja para a extração da vitamina E. *Arquivo de Biologia e Tecnologia*. Curitiba, v.37, n.4, p.1003-1011, dez., 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). *Official Methods of Analyses*. Arlington: AOAC, 1995. Cap. 45, p.30-33.
- CHRISTIE, A.A.; DEAN, A.C.; MILLBURN, B.A. The determination of vitamin E in food by colorimetry and gas-liquid chromatography. *Analyst*, v.98, p.161-167, Mar. 1973.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. *Indicadores da Agropecuária*. v.1, n.7, p.38-47, dez./jan. 1998.
- CORDENUNSI, B.R.; DA SILVA, R.S.F.; SRIVASTAVA, K.C.; FABRE SANCHES, S.; PERRE, M.A. Mathematical model for the alcoholic fermentation in batch culture: comparison between complete and incomplete factorial ( $3^3$ ) designs. *Journal of Biotechnology*. Amsterdam, v.2, p.1-12, 1985.
- DIZIEZAK, J. D. (Ed.) Preservatives: antioxidants the ultimate answer to oxidation. *Food Technology*, p.94-102, Sept., 1986.
- GOSH, S.; BHATTACHARYA, D.K. Isolation of tocopherol and strol concentrate from sunflower oil deodorizer distillate. *The Journal of American Oil Chemists Society*, v.73, n.10, Oct., 1996.
- LEE, H.; CHUNG, B.H.; PARK, Y.H. Concentration of tocopherols from soybean sludge by supercritical carbon dioxide. *The Journal of American Oil Chemists Society*, v.68, n.8, p.571-573, Aug., 1991.
- MOTTA, S.; ARAÚJO, J. M.A. Concentração de vitamina E a partir de destilado de óleo de soja. *Arquivo de Biologia e Tecnologia*. Curitiba, v.34, n.2, p.217-226, jun., 1991.
- NOGALA-KATUCKA, M.; GOGOLEWSKI, M.; SWIATKIEICZ, E. Changes in the composition of tocopherols and fatty acids in postdeodorisation condensates during refining of oils. *Fat Science Technology*. n.4, 1993.
- SNYDER, H.E.; KNOW, T.W. *Soybean Utilization*. New York: Avi, 1987. 346p.